

· 基础研究 ·

微波辐射对几种常见表皮癣菌杀灭或抑制效应的实验研究

杨少华 程培华 陈德华 黄熙 郭昆义 罗美芳 黄苹

【摘要】目的 探讨微波辐射对红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌杀抑的效应。**方法** 采用 ME-7250 型、频率 2 450 MHz 的医用微波仪,分别以输出功率为 20,40,60 W 的微波,辐射接种后的红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌,并对其生长情况进行实验室观察。将接种的红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌的试管,分别按不同的辐射时间、辐射次数分为辐射 10,15,20 min 三大组;每一辐射时间档中分为辐射 1,3,6,9 次的组别。按设计分组辐射完成后,置 27℃ 恒温箱内。30 d 后,观察试管内菌落的生长情况,并在显微镜下对其生物学形态进行观察。**结果** 输出功率 20 W 的微波辐射无明显的杀抑效应。输出功率 40 W 的微波辐射 10 min,15 min 有抑菌的效应;辐射 20 min 有较明显抑菌的效应。输出功率 60 W 的微波辐射 10 min,有较明显抑菌的效应,辐射 15 min,20 min 显现杀菌效应。**结论** 输出功率 40 W 的微波辐射有抑菌的效应。输出功率 60 W、频率 2 450 MHz 的微波辐射红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌,有明显的抑制生长和杀菌作用,效应随辐射强度的增大而增强。

【关键词】 微波; 红色毛癣菌; 犬小孢子菌; 须癣毛癣菌 杀抑效应

An experimental study of the inhibiting and killing effects of microwave diathermy on some epidermophytosis fungi YANG Shao-hua*, CHENG Pei-hua, CHEN De-hua, HUANG Xi, GUO Kun-yi, LUO Mei-fang, HUANG Ping. *Department of Physical Therapy, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, China

【Abstract】Objective To study the inhibiting and killing effects of microwave diathermy on some epidermophytosis fungi. **Methods** The cultured *T. rubrum*, *M. canis* and *T. mentagrophytes* were irradiated with a therapeutic microwave diathermy apparatus with the frequency of 2 450 MHz and power of 20 W, 40 W and 60 W, respectively. Each fungus was divided into different groups according to the duration of irradiation each time (eg. 10, 15 and 20 minutes), and times of irradiation (eg. 1, 3, 6 and 9 times). All the samples of the fungi were cultured at 27℃ for 30 days after radiation and then observed under microscope. **Results** It was shown that 20 W of microwave had no inhibiting or killing effect on the various fungi studied; 10, 15 and 20 minutes of irradiation with 40 W microwave could inhibit the growth of the various fungi; 15 and 20 minutes of irradiation with 40 W microwave had significant killing effect on the various fungi. **Conclusion** Microwave of 2 450 MHz and 40 W had significant inhibiting effects while 60 W microwave had significant killing effects on the *T. rubrum*, *M. canis* and *T. mentagrophytes* in the condition of the experiment. The inhibiting and killing effect was dose-dependent on the microwave irradiation.

【Key words】 Microwave; *Trichophyton rubrum*; *Microsporum canis*; *Trichophyton mentagrophytes*; Inhibiting and killing effects

红色毛癣菌(*trichophyton rubrum*)、犬小孢子菌(*microsporum canis*)、须癣毛癣菌(*trichophyton mentagrophytes*)为临床常见的引起浅部皮肤真菌病的致病菌。2 450 MHz微波属特高频电磁场。近年来许多学者应用2 450 MHz不同功率的微波对其灭菌的机制做了大量的研究工作^[1,2]。应用中、小功率的微波对实验菌进行辐射,观察对该实验菌生物学方面影响的研究尚鲜见报道。本实验用临床治疗常用的输出功率为20,40,60 W的微波辐射红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌进行辐射,并对其生长情况进行了实验研究,

现报道如下。

材料与方法

一、仪器与培养基

采用日本 OG 公司生产的频率 2 450 MHz、输出功率 0~200 W 的 ME-7250 型医用微波机,苏州净化设备厂 SW-CT-1F 型净化工作台,电热恒温培养箱,生物显微镜,SP-E-2 型数显传感温度仪。培养基为含氯霉素的改良沙氏培养基(Chloromycetin Sabouraud Dextrose Agar, CMTA),主要成分有葡萄糖、蛋白胨、琼脂、氯霉素等。培养基制成后分装试管,高压消毒后制成斜面备用。

作者单位:541001 桂林,桂林医学院附属医院康复医学科(杨少华、郭昆义、罗美芳),皮肤科(程培华、陈德华、黄熙、黄苹)

二、菌种与分组

红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌菌种由桂林医学院附属医院真菌实验室提供。将接种的红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌每一菌种的试管分别按辐射功率 20, 40, 60 W 分为三大组, 每一大组按辐射时间分为辐射 10, 15, 20 min 组; 每一辐射时间档中分为辐射 1, 3, 6, 9 次的组别。每一大组设一对照组, 并于接种后置 27℃ 恒温箱内培养 30 d。

三、微波辐射方法

采用圆形辐射器, 按照实验分组进行, 辐射距离 8 cm, 辐射同时用数显传感温度仪测量试管内温度变化情况。每日 1 次, 每次辐射结束后, 将各菌种置 27℃ 恒温箱内, 隔日观察。观察 30 d 后, 做实验组与对照组的菌落制片镜检, 观察并记录实验菌经微波辐射后的形态学和生长情况: 实验菌大体形态, 包括菌丝和孢子是否萎缩、溶解和液化; 菌落的大小。

对每一辐射功率(20, 40, 60 W)下、每一辐射时间(10, 15, 20 min)的温度变化取平均数。

四、真菌生长记录方法

菌落生长情况采用常用真菌生长记录方法: (+ + + +)——旺盛生长, 菌落 > 2 cm², 冲出斜面; (+ + +)——较旺盛生长, 菌落 < 2 cm², 充满斜面; (+ +)——少量生长, 菌落 < 1 cm², 占培养基斜面的 1/2; (+)——微量生长, 菌落 < 0.5 cm², 营养菌丝为主; (±)——极微量生长, 极少量营养菌丝; (-)——无菌生长。30 d 后观察生长情况。

形态学镜下观记录: (-)——呈杀菌作用, 可见大量菌丝孢子已萎缩, 溶解液化; (±)——为明显抑制作用, 可见大量菌丝孢子呈萎缩状, 部分已溶解液化; (+)——为明显抑制作用, 可见多量菌丝孢子呈萎缩状, 部分已溶解液化; (+ +)——为抑菌作用, 可

见部分菌丝孢子呈萎缩状; (+ + +)——为轻微抑菌作用, 可见少量菌丝孢子呈萎缩状; (+ + + +)——无抑菌作用, 菌丝孢子无萎缩现象。

结 果

一、微波辐射的温度变化

温度的测量采用 SP-E-2 型数显传感温度仪, 精度为 0.5℃, 测量菌种试管内温度, 温度的变化随剂量的增加而升高。

输出功率 20 W, 辐射时间为 10, 15, 20 min 的温度变化, 分别为 $\bar{X}_{10} = (28.62 \pm 0.81)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{15} = (33.85 \pm 0.76)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{20} = (39.01 \pm 0.92)^\circ\text{C}$; 输出功率 40 W, 辐射时间为 10, 15, 20 min 的温度变化, 分别为: $\bar{X}_{10} = (47.77 \pm 1.01)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{15} = (52.68 \pm 0.97)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{20} = (57.09 \pm 0.84)^\circ\text{C}$; 输出功率 60 W, 辐射时间 10, 15, 20 min 的温度变化分别为: $\bar{X}_{10} = (52.75 \pm 0.57)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{15} = (57.17 \pm 0.96)^\circ\text{C}$, $\bar{X}_{20} = (63.18 \pm 0.74)^\circ\text{C}$ 。详见图 1。

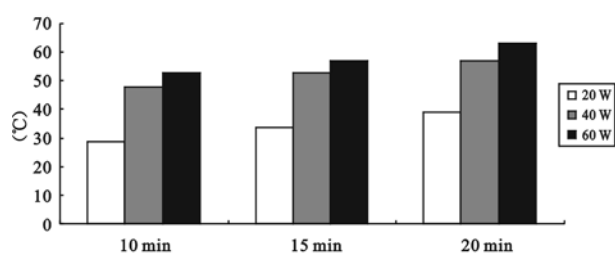


图 1 20, 40, 60 W 微波辐射不同时间的温度变化情况

二、微波辐射后对真菌生长的影响

对照组于第 2 或第 3 天开始有菌生长, 30 d 后, 对照组均生长旺盛(图 2, 3, 4)。实验组按不同的辐射剂量呈现不同的杀、抑菌作用(表 1)。

表 1 微波辐射对红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌的杀菌、抑菌结果

组 别	辐射次数	红色毛癣菌			犬小孢子菌			须癣毛癣菌			
		10 min	15 min	20 min	10 min	15 min	20 min	10 min	15 min	20 min	
实验组											
20 W	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40 W	3	+	+	+	+	+	+	±	+	+	±
	6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
	9	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
60 W	3	+	±	-	+	±	-	+	±	-	
	6	+	±	-	±	-	-	±	-	-	
	9	±	-	-	±	-	-	±	-	-	
对照组											
20 W	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40 W	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60 W	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: 所有经辐射后呈杀菌效应未生长的菌落, 经培养及转种培养 30 d 后, 未见生长呈阴性



图2 30 d 后的红色毛癣菌对照组

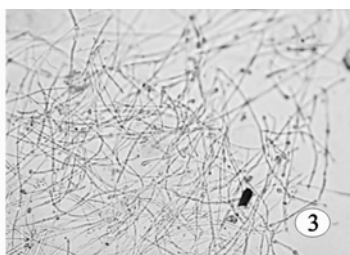


图3 30 d 后的犬小孢子菌对照组

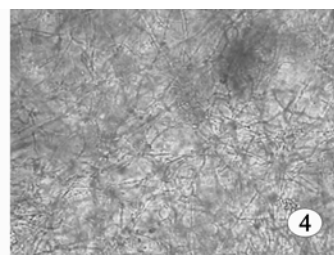


图4 30 d 后的须癣毛癣菌对照组

辐射功率 20 W 组,各不同剂量组镜下均无杀、抑菌作用;输出功率 40 W 的微波辐射,辐射 10 min, 15 min 有抑菌效应。辐射 20 min 有较明显杀、抑菌的效应。30 d 后的菌种生长情况:10 min 组的结果为(++++),15 min 组辐射 6 次为(++),辐射 9 次(+). 20 min 组辐射 6,9 次均为(-)。镜下观:15 min 组为(+),呈明显抑菌,可见多量菌丝萎缩状,多量孢子呈萎缩状,部分呈溶解液化状(图 5, 7, 9)。经 20 min 辐射后,除红色毛癣菌辐射 6 次为明显抑菌效应(±),其余菌呈杀菌效应(-),表现为,可见大量菌丝,孢子呈萎缩、溶解、液化状(图 6, 8, 10)。

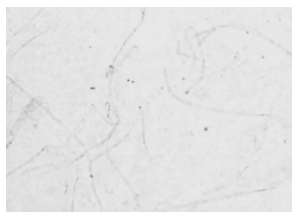


图5 40 W 微波辐射 15 min, 6 次后,红色毛癣菌生长(++),表现为抑菌效应

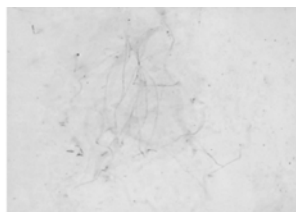


图6 40 W 微波辐射 20 min, 6 次后,红色毛癣菌生长(±),为明显抑制作用

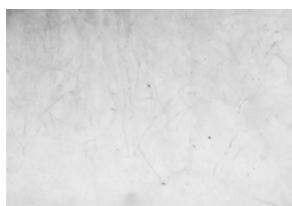


图7 40 W 微波辐射 15 min, 6 次后,犬小孢子菌生长(+),为明显抑菌作用

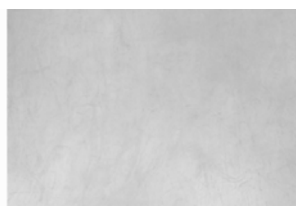


图8 40 W 微波辐射 20 min, 6 次后,犬小孢子菌生长(-),呈杀菌作用



图9 40 W 微波辐射 15 min, 6 次后,须癣毛癣菌生长(+),为明显抑菌作用

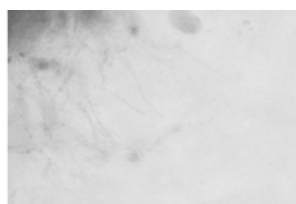


图10 40 W 微波辐射 20 min, 6 次后,须癣毛癣菌生长(-),呈杀菌作用

输出功率 60 W 的微波辐射,辐射 10 min 组第 6,9 次有较明显抑菌效应,辐射 15 min, 20 min 组第 6,9 次显现杀菌效应。镜下,经辐射后呈杀菌效应的菌落,可见大量菌丝、孢子呈萎缩、溶解、液化状(图 11, 12, 13)。

对不生长的菌再进行转种培养 30 d 后观察,仍未见有菌生长(图 14)。

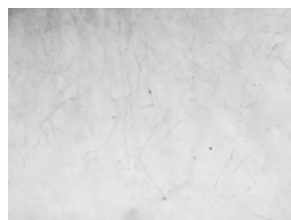


图11 60 W 微波辐射 15 min, 6 次后,犬小孢子菌生长(-),杀菌作用



图12 60 W 微波辐射 20 min, 6 次后,须癣毛癣菌生长(-),杀菌作用



图13 60 W 微波辐射 20 min, 6 次后,红色毛癣菌生长(-),杀菌作用

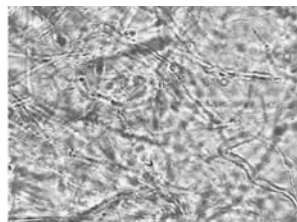


图14 60 W 微波辐射 20 min, 6 次后,红色毛癣菌未生长,转种后培养未见菌生长(-)

讨 论

微波作为一种常用的物理治疗方法,有较广泛的生物学效应^[4-9]。红色毛癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌是引起皮肤浅部真菌病的常见致病菌,耐温 60 ~ 70℃,达此温度 1 h 可被杀死^[10]。微波的作用机制如下:①热效应,微波的电磁能量可在组织中引起离子及偶极子振荡,产生热效应;②非热效应,使用小剂量微波作用于介质或生物体时,虽然能产生离子及偶极子振荡运动,但无升温现象,也能产生生物学作用;③作用的深度,2 450 MHz 微波的波长极短,单向辐射,其辐

射的深度可达机体组织 3~5 cm。由于微波穿透较深,在穿透深度内升温几乎一致。微波辐射具有以上作用,当微波辐射量足够大时(输出功率 200 W),2 min 即可杀灭 93.53% 的白色念珠菌^[11]。而本实验观察输出功率 40 W 的中等剂量微波的杀抑菌作用,当辐射时间为 15 min 时可见有明显的抑菌效应,辐射时间 20 min 时可见有明显的杀菌效应,这两剂量下的温度分别为:52.68℃、57.09℃。在此剂量下,均未达 70℃ 时,出现生物学效应的可能因素为:微波的生物效应是热效应和非热效应综合作用的结果,使生物体温度上升,同时对生物体体内的离子状态、生物电变化及细胞状态、酶活性等产生影响(如电磁场效应、量子效应、超导作用等),对菌细胞形态及通透性等产生影响^[12]。

当输出功率 60 W,辐射时间为 15 min、20 min 的剂量辐射 6、9 次,可见有明显的杀菌效应。输出功率 60 W 的中等剂量是临床上常用的剂量,因此本实验的结果为临床治疗由该实验菌所引起的浅部皮肤真菌病提供了一种可探讨的治疗方法。

参 考 文 献

- 1 席晓莉,吴道澄,王刚. 微波灭菌的研究进展. 生物医学工程学杂志,2002,19:336.
- 2 李清明,谭兴和,何煜波,等. 微波杀菌技术研究进展. 食品与发酵工业,2003,29:86-89.
- 3 杨少华,程培华,陈德华,等. 氦氖激光照射对几种常见皮肤癣菌生长的抑制效应实验观察. 中华理疗杂志,1999,22:308.
- 4 Safronova VG, Gabdoulkhkova AG, Santalov BF, et al. Immunomodulating action of low intensity millimeter wave on primed neutrophils. Bioelectromagnetics,2002,23:599.
- 5 田德虎,郭明珂,米立新,等. 分米波防治屈肌腱粘连机制的实验研究. 中华物理医学与康复杂志,2003,25:646-649.
- 6 齐素萍,宫春风,马哲,等. 微波对急性胰腺炎大鼠氧自由基代谢功能的影响. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:77.
- 7 姜涛,王德文,张建,等. 高功率微波对兔眼晶状体上皮细胞 p21^{WAF1} 及 Cyclin E 表达的影响. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:324.
- 8 Usichenko TI, Ivashkivsky OI, Gizhko VV. Treatment of rheumatoid arthritis with electromagnetic millimeter waves applied to acupuncture points—a randomized double blind clinical study. Acupunct Electrother Res, 2003,28:11-15.
- 9 杨朝辉,刘莉,周淑华,等. 毫米波对周围神经损伤修复的影响. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:592-594.
- 10 贾文祥,主编. 医学微生物学. 北京:人民卫生出版社,2001. 106.
- 11 丁兰英,将莉,杨华明,等. WBY-1 型微波牙科手机消毒器的研究. 中国消毒学杂志,1995,12:66.
- 12 Vardaxis NJ, Hoogeveen MM, Boon ME, et al. Sporicidal activity of chemical and physical tissue fixation methods. J Clin Pathol, 1997,50:429-433.

(修回日期:2005-07-12)

(本文编辑:熊芝兰)

· 短篇论著 ·

局部氧疗对难愈性创面的临床效应

尤爱民 雷万军 刘先超

各种机械性因子作用于机体组织所造成的创伤,依靠机体的自身修复,大都能在一定时期内愈合,但部分创面由于感染、压力和糖尿病等原因而不能达到一期愈合,甚至发展为溃疡创面,迁延不愈。2002 年 1 月至 2004 年 7 月,我科在临床常规治疗的基础上,增加局部氧疗治疗 97 例患者的四肢难愈性创面,疗效满意。现报告如下。

一、资料与方法

四肢创伤患者创面未能一期愈合,迁延不愈,且时间 > 20 d 者 194 例(均未暴露神经、肌腱、骨)。其中因感染所致 64 例,缝合口张力过大 123 例,创伤合并糖尿病 5 例,营养不良 2 例。所有患者随机分为治疗组 97 例,男 56 例,女 41 例;年龄 13/12~67 岁,平均(25.7±2.5)岁;创面面积最大 7 cm×11 cm,最小 0.5 cm×1.0 cm,平均(1.47±0.4)cm²;创面时间 23~117 d,平均(39.7±4.7)d;接受正规外科处理 23 例。对照组患者 97 例,男 60 例,女 37 例;年龄 1~66 岁,平均(26.4±

3.6)岁;创面面积最大 6.7 cm×9.8 cm,最小 0.52 cm×0.90 cm,平均(1.43±0.50)cm²;创面时间 27~109 d,平均(38.2±3.5)d,接受正规外科处理 21 例。2 组患者性别、年龄、病因、症状和病程等方面经统计学分析,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

对照组每日根据创面性质用抗生素局部湿敷或全身用药,采用远红外线照射创面每次 30 min,常规外科换药处理。治疗组在对照组治疗方法的基础上加用局部氧疗,且用 1 次性无菌纸杯屏蔽创面,距创面 5 cm,用流量 5~6 L/min 的纯氧,局部直吹 5~6 min/cm²,5 d 为 1 个疗程,最多连续治疗 4 个疗程。

评定标准:治愈——创面完全由上皮组织覆盖,无溢出物;显效——创面缩小,溢出物减少,没愈创面基本由新鲜肉芽填充;无效——未见创面缩小,无新鲜肉芽填充。

统计学分析:计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

二、结果

所有病例均获得随访。分别在治疗 5、10、15、20 d 后,对两组患者的创面愈合情况进行评定,详见表 1。

作者单位:471003 洛阳,河南省显微外科研究所(尤爱民、雷万军);南阳市南石医院烧伤整形科(刘先超)